



TITLE:

Brg1 plays an essential role in development and homeostasis of the duodenum through regulation of Notch signaling(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Takada, Yutaka

CITATION:

Takada, Yutaka. Brg1 plays an essential role in development and homeostasis of the duodenum through regulation of Notch signaling. 京都大学, 2017, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2017-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20233>

RIGHT:

許諾条件により本文は2017-10-01に公開; 論文のweb siteへのlink
<http://dev.biologists.org/content/143/19/3532.long>

京都大学	博士（ 医学 ）	氏 名	高 田 裕
論文題目	Brg1 plays an essential role in development and homeostasis of the duodenum through regulation of Notch signaling (Brg1 は Notch シグナルの制御を介して、十二指腸の発生および恒常性維持に必須な役割を果たす)		
(論文内容の要旨)			
<p>SWI/SNF 複合体の ATPase 活性を持つコアサブユニットである Brg1 は、ATP 依存性のクロマチン構造変化を介して様々な遺伝子の発現制御に関わっており、多くの組織や臓器の発生・恒常性維持に重要な役割を持つことが知られている。しかしながら、腸管の発生や恒常性維持における Brg1 の役割は不明であった。本研究では、腸管の発生と恒常性維持における Brg1 の役割を明らかにすることを目的とした。その目的のため、腸上皮特異的に <i>Brg1</i> をノックアウトした <i>Villin-Cre; Brg1^{fl/fl}</i> マウス(以下 VB マウス)を作成し、野生型(以下 WT)マウスをコントロールとして比較解析した。</p> <p>VB マウスは出生直後より著明な成長障害を認め、生後早期に死亡した。生後 4 日目のマウスの腸管を解析すると、VB マウスの十二指腸において、絨毛の丈の短縮と絨毛間隙の著明な構造異常が認められた。この形態異常は十二指腸で最も顕著であり、遠位小腸になるにつれて減弱がみとめられた。十二指腸上皮の細胞構成を調べた結果、VB マウスでは分泌系分化細胞(Goblet 細胞、腸管内分泌細胞、Tuft 細胞、Paneth 細胞)の著明な増加が認められた。さらに VB マウスではアポトーシスの著しい増加と、Ki67 陽性増殖細胞の増加が認められた。また、着目すべきことに VB マウスの十二指腸においては <i>Lgr5</i> 陽性の小腸幹細胞がほとんど認められず、小腸幹細胞の特異的なマーカー遺伝子群の発現が著明に低下しており、小腸幹細胞が枯渇していた。</p> <p>次に、腸幹細胞維持、分化などに重要な働きをする Notch シグナルについて、VB マウスの十二指腸で解析した結果、WT マウスに比して Notch シグナルリガンド(<i>Dll1</i>、<i>Dll4</i>、<i>Jag1</i>、<i>Jag2</i>)、その他因子(<i>Olfm4</i>、<i>Musashi1</i>、<i>Hes1</i>、<i>Hes5</i>、<i>Heyl</i>)の発現低下を認め、VB マウスの十二指腸において Notch シグナルが著明に減弱していることが判明した。</p> <p>そこで、Notch シグナルを過剰発現させることによって VB マウスの表現型が改善されるかを検証するため、Notch1ICD 過剰発現マウスである <i>Rosa^{Notch1IC}</i> マウス(Cre 発現下に Notch1 細胞内ドメイン(Notch1 ICD)を恒常的に過剰発現する)を用い、<i>Villin-Cre; Brg1^{fl/fl}; Rosa^{Notch1IC}</i> (以下 VBN)マウスを作成し、VB マウスおよび WT マウスと比較解析した。VBN マウスでは VB マウスと比較して、有意な体重増加と生存期間の改善を認めた。また VBN マウスでは絨毛・絨毛間隙の構造異常は改善し、分泌系分化細胞への異常な分化、アポトーシスの増加は WT マウスと同程度にまで改善が認められた。しかし、VBN マウスの十二指腸腸幹細胞の枯渇は依然改善されず、小腸幹細胞の維持には Notch シグナル以外のメカニズムによるものが考えられた。</p> <p>最後に、遠位小腸と近位小腸での比較解析を行った。VB マウス遠位小腸ではほとんど異常が認められなかったが、Notch シグナルの発現にも有意差が認められなかった。SWI/SNF 複合体はコアサブユニットとして Brg1 もしくは Brm の</p>			

いずれかを含んでいるが、遠位小腸では WT および VB マウスのいずれも近位小腸に比して Brm が高発現していたことから、VB マウス遠位小腸では Brm が Brg1 欠損を代償した可能性が示唆された。
以上より、本研究により、Brg1 は Notch シグナルの発現制御を介して、十二指腸の発生および恒常性維持に必須な役割を果たしていることが明らかになった。
（論文審査の結果の要旨）
SWI/SNF 複合体の ATPase 活性を持つコアサブユニット Brg1 は、様々な組織や臓器の発生、恒常性維持に重要な役割を持つことが報告されているが、腸管の発生、恒常性維持におけるその機能的役割は不明であった。そこで申請者らは、腸管の発生、恒常性維持における Brg1 の役割を検討した。
申請者らは、腸上皮特異的に <i>Brg1</i> をノックアウトした遺伝子改変マウスを解析し、Brg1 が十二指腸において、絨毛と絨毛間隙構造の構築、細胞分化の制御、アポトーシスおよび細胞増殖の制御、さらに小腸幹細胞の発生および維持に必須であることを示した。また <i>Brg1</i> 欠損マウスの十二指腸では、Notch シグナルが著明に減弱していたことから、 <i>Brg1</i> 欠損マウスにおいて Notch シグナルを過剰発現させたところ、 <i>Brg1</i> 欠損マウスに比べて生存期間、十二指腸で認められた絨毛と絨毛間隙の構造異常、細胞分化異常、アポトーシスの異常について、いずれも改善が認められた。以上の結果より、Brg1 は Notch シグナルの制御を介して、十二指腸の発生および恒常性維持に必須な役割を果たしていることが明らかになった。
以上の研究は、腸管の発生および恒常性維持における分子メカニズムの解明に貢献するところが多く、今後腸管の再生医療などに寄与する可能性が考えられる。
したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。
なお、本学位授与申請者は、平成 2 9 年 1 月 1 7 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。